

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Instrumentação pela infraestrutura e a CAPES/CNPq pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

MEDEIROS, E. S.; GLENN, G. M.; KLAMCZYNSKI, A. P.; ORTS, W. J.; MATTOSO, L. H. C. Solution Blow Spinning: A New Method to Produce Micro- and Nanofibers from Polymer Solutions. *J. Appl. Polym. Sci*, v. 113, p. 2322-2330, 2009.

MEDEIROS, E. S.; GLENN, G. M.; KLAMCZYNSKI, A. P.; ORTS, W. J.; MATTOSO, L. H. C. US8641960: Solution Blow Spinning. Washington, 2014.

OLIVEIRA, J. E.; MORAES, E. A.; MARCONCINI, J. M.; MATTOSO, L. H. C.; GLENN, G. M.; MEDEIROS, E. S. Properties of poly(lactic acid) and poly(ethylene oxide) solvent polymer mixtures and nanofibers made by solution blow spinning. *J. Appl. Polym. Sci*, v. 129, p. 3672-3681, 2013.

OLIVEIRA, J. E.; MORAES, E. A.; COSTA, R. G. F.; AFONSO, A. S.; MATTOSO, L. H. C.; ORTS W. J.; MEDEIROS, E. S. Nano and submicrometric fibers of poly(D,L-lactide) obtained by solution blow spinning: process and solution variables. *J. Appl. Polym. Sci*, Vol. 122, p. 3396-3405, 2011.

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MORFOLÓGICA DE ANTIBIÓTICO β -LACTÂMICO ENCAPSULADO EM NANOPARTICULAS PARA O TRATAMENTO DE INFECÇÕES BOVINAS

R. G. Castanheira¹, R. S. Araújo¹, L. T. Oliveira¹, G. M. Garcia¹, J. M. C. Vilela², H. M. Brandão³, *V. C. F. Mosqueira¹

¹Laboratório de Desenvolvimento Galênico e Nanobiotecnologia, CIPHARMA, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG. ²Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC-MG), Belo Horizonte. *vamosqueira@gmail.com

Classificação: Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

Abstract

Os antibióticos β -lactâmicos (BL) são amplamente utilizados na prática veterinária devido à sua atividade contra bactérias gram-positivas, especialmente *Staphylococcus spp.* Portanto, o objetivo desse estudo foi o preparo, a caracterização físico-química e morfológica e estudo de encapsulação de NP de carga positiva contendo BL, as quais também podem ser empregadas em estudos de biodistribuição.

Keywords: mastite bovina, nanopartículas, caracterização físico-química

Publicações relacionadas: artigos submetidos

Araújo, RS, Vilela JMC, Andrade MS, Kano EK, Lange CC, Paiva e Brito MAV, Castanheira RG, Brandão HM, Mosqueira VCF. Cloxacillin benzathine polymeric nanocapsules for veterinary use: quantification and assay validation, release kinetic and in vivo antimicrobial effect.

Castanheira RG, Araújo, RS, Vilela JMC, Andrade MS, Brandão HM, Mosqueira VCF. Bioadhesive nanoparticles for mastitis treatment: characterization, release kinetic and ex vivo interaction with bovine mammary gland.

Dissertação de mestrado defendida no PPG Ciências Farmacêuticas UFOP (Castanheira RG, Nanopartículas bioadesivas para administração intramamária: desenvolvimento, caracterização físico-química, cinética de liberação e avaliação biológica ex vivo).

1 INTRODUÇÃO

Infecções bovinas causadas por bactérias são responsáveis por grandes perdas econômicas dos criadores em todo o mundo. As perdas se devem aos investimentos feitos em tratamento e prevenção, à redução da qualidade da carne e do leite e à morte dos animais infectados (A. Zeconi *e cols.*, 2009; Dee Griffin, 2010). Além do problema do desenvolvimento de resistência aos antibióticos, o tratamento das infecções bovinas bacterianas pode ser complicado devido a outros fatores, como a degradação precoce da droga e sua inativação por secreções inflamatórias. Nesses casos, há uma redução da biodisponibilidade da droga, o que pode resultar em cura reduzida e recorrência da doença (C.H. Sandgren *e cols.*, 2008).

Nanopartículas poliméricas (NP), como nanocápsulas (NC) e nanoesferas (NS) são candidatas interessantes para disponibilização de antibióticos em infecções bacterianas (Couvreur & Vauthier, 2006). Eles apresentam alta estabilidade em contato com fluidos biológicos, sua natureza permite liberação controlada da droga e a protege da degradação prematura (J.M. Irache *e cols.*, 2011). A encapsulação de antibióticos em NP pode aumentar a dose máxima tolerada e seu índice terapêutico se comparada à droga livre, o que pode ser explicado pela modificação na biodistribuição e perfil farmacocinético da droga encapsulado (Couvreur & Vauthier, 2006). Os antibióticos β -lactâmicos (BL) são amplamente utilizados na prática veterinária devido à sua atividade contra bactérias gram-positivas, especialmente *Staphylococcus spp* (P. Gruet *e cols.*, 2001). Portanto, o objetivo desse estudo foi o preparo, a caracterização físico-química e morfológica e estudo de encapsulação de NP de carga positiva contendo BL, as quais também podem ser empregadas em estudos de biodistribuição.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Os BL foram obtidos pela Embrapa-GL (Brasil) e os polímeros utilizados, poli- ϵ -caprolactona (PCL) e quitosana quimicamente modificada (QM), foram obtidos da Sigma-Aldrich (EUA).

2.1 Preparo de Nanopartículas

Nanoestruturas associadas à BL foram preparadas de acordo com protocolo documentado (Mosqueira *e cols.*, 2006) usando os polímeros PCL e QM.

2.2 Caracterização de Nanopartículas

2.2.1 Espectroscopia de correlação fotônica

O tamanho médio das NP foi avaliado no equipamento Nanosizer N5 PLUS (Beckmann Coulter, Fullerton, EUA) e os valores obtidos foram expressos como média \pm desvio padrão.

2.2.2 Análise de potencial zêta

O potencial zêta foi avaliado por medida eletroforética acoplada a anemometria do laser doppler no equipamento Zetasizer HS3000 (Malvern Instruments, Malvern, UK) e os valores expressos como média \pm desvio padrão.

2.2.3 Microscopia de força atômica (MFA)

Análise de MFA foi realizada em temperatura ambiente, no Equipamento Dimension 3100 monitorado por controlador Nanoscope IIIa da Digital Instruments (Santa Barbara, CA, EUA) usando software versão Nanoscope 5.31r1 (Veeco Metrology, Santa Bárbara, EUA) para aquisição de dados. As imagens foram obtidas usando placas de sílica comerciais, sonda de 228 μ m de comprimento. Uma alíquota de 5 μ L da amostra foi diluída em água MilliQ e depositada sobre placa de mica recentemente clivada, espalhada e seca em corrente de argônio.

2.2.4 Eficiência de Encapsulação

A porcentagem e eficiência de encapsulação (EE) foram determinadas pela técnica de ultrafil-

tração/centrifugação por HPLC em equipamento Waters Alliance 2695 acoplado a DAD Waters 2996. A quantidade de droga na NP foi determinada pela Eq. (1) e a EE pela Eq. (2), na qual A=concentração.

$$(1)$$

$$(\%) = \frac{A^{\text{total}} - A^{\text{ultrafiltrate}}}{A^{\text{weighted}}} \times 100 \quad (2)$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1. Caracterização físico-química de NP

NP	[Fármaco] (mg/ml)	Tamanho médio (nm)	IPD	Zéta (mV)
NS1	0,5	246,7	0,13	+52,0
NS2	1,0	230,8	0,10	+51,9
NS3	2,0	306,5	0,11	+19,9
NS4	3,0	294,1	0,14	+18,6
NC1	0,5	264,9	0,19	+39,4
NC2	1,0	295,3	0,20	+41,3
NC3	2,0	282,0	0,23	+28,2
NC4	3,0	328,3	0,34	+28,5

Volume final: 5 ml. NP=nanopartícula.

Tabela 2. Eficiência de encapsulação de NP com diferentes concentrações de BL.

NP	[Fármaco] (mg/ml)	LOADING (%)	Eficiência de encaps. (%)
NS1	0,5	74	47
NS2	1,0	67	41
NS3	2,0	67	46
NS4	3,0	55	26
NC 1	0,5	78	58
NC 2	1,0	79	52
NC 3	2,0	78	37
NC4	3,0	72	22

Volume final: 5 ml. NP=nanopartícula.

Como mostrado nas tabelas 1 e 2, o aumento da concentração da droga reduz a estabilidade da partícula e influencia significativamente ($p < 0.05$) a carga superficial da partícula a seu índice de polidispersão. Ambos os tipos de NP, matricial (NS) e vesicular (NC) foram afetados. A incorporação do fármaco à NP e a eficiência de encapsulação foram reduzidas à medida que a concentração do fármaco aumentou. A estabilidade coloidal provavelmente foi comprometida pela redução do potencial elétrico de superfície das NP, induzindo agregação.

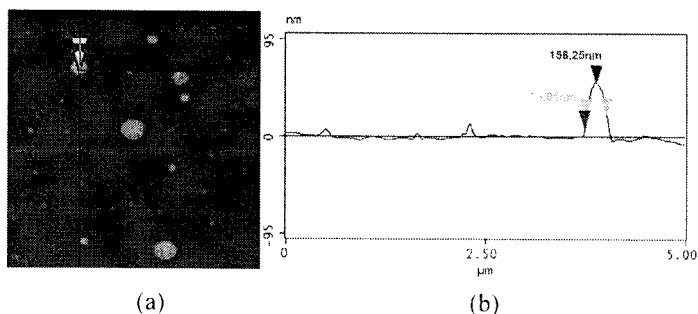


Figura 1. Altura por MFA (a) imagem e perfil topográfico (b) de NS com 0,5mg/ml de BL. Escaneamento: $3\mu\text{m} \times 3\mu\text{m}$.

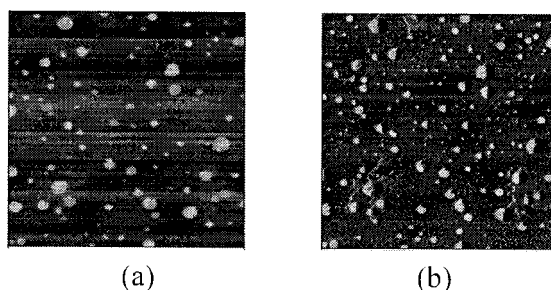


Figura 2. Altura por MFA (a) e fase (b) de NS com 0,5mg/mL de BL. Tamanho $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$.

As figuras 1 e 2 mostram estruturas esféricas e nanométricas homogêneas. Na figura 1 é possível analisar a relação diâmetro/altura da NS=1,6, indicando estrutura macia e deformável, provavelmente devido ao recobrimento por polímero de QM. Esses resultados corroboram com as iamgens da figura 2, demonstrando uma superfície irregular e deformável da NS.

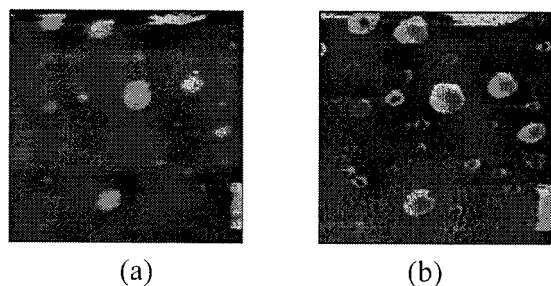


Figura 3. Altura por MFA (a) e fase (b) de NC com 0,5mg/ml de BL. Tamanho $3\mu\text{m} \times 3\mu\text{m}$.

A figura 3 mostra estruturas mais heterogêneas e deformáveis, provavelmente devido à adesão das NC na superfície de deposição da amostra sob pressão da sonda.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG/Brasil pelo apoio financeiro aos autores e à pesquisa. Esse trabalho foi também financiado pelo programa NANOBIO MG, Minas Gerais, e pela Embrapa – Gado de Leite, Brasil.

REFERÊNCIAS

- [1] A. Zecconi *e cols.*, Evaluation of interleukin-2 treat..., *Comp. Immunol., Microbiol. And Inf. Dis.* 32, 439-451 (2009).
- [2] C.H. Sandgren *e cols.*, Therapeutic effects of systemic or intram..., *The Vet. J.* 175, 108-117 (2008).
- [3] Couvreur & Vauthier, Nanotechnology: intelligent design..., *Pharm. Res.* 23, 1417-1450

- [4] Dee Griffin. Bovine Pasteurellosis and Other Bact..., Vet. Clin. N. Am.: Food Anim. Pract. 26, 57-71 (2010).
- [5] J. M. Irache *e cols.*, Nanomedicine: novel approaches..., Vet. Parasitol., 1-25 (2011).
- [6] P. Gruet *e cols.*, Bovine mastitis and intram...,

AFM CHARACTERIZATION OF PEG-*BLOCK*-PLA BIODEGRADABLE NANOPARTICLES

Giani Martins Garcia¹, Margareth Spangler Andrade², José Mário Carneiro Vilela², Patrice Hildgen³, *Vanessa Carla Furtado Mosqueira

¹Laboratório de Desenvolvimento Galênico e Nanobiotecnologia, CiPharma, Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG. ²Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC-MG), Belo Horizonte, MG. ³Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Québec, Canada.
*mosqueira@ef.ufop.br

Classificação: Novos Materiais e Processos em Nanotecnologia e suas Aplicações no Agronegócio

Resumo:

Neste estudo, apresentamos a caracterização físico-química de nanoesferas poliméricas (NS), produzidas a partir de polímeros em bloco de ácido poli-*rac*-lático (PLA) covalentemente ligado ao polietilenoglicol (PEG). Utilizou-se polímeros com arquiteturas diferentes; do tipo dibloco (PLA-PEG) e tribloco (PLA-PEG-PLA), com ou sem funcionalização ao longo da cadeia de PLA. As nanoestruturas foram analisadas e caracterizadas de acordo com o tamanho por espectroscopia de correlação de fótons (PCS), obtendo-se o tamanho médio e o índice de polidispersão (IP). A análise morfológica foi realizada por microscopia de força atômica (MFA). O tamanho médio de NS obtido por MFA; 158 nm (PLA), 81 nm (dibloco) e 98 nm (tribloco) foram menores que os obtidos por PCS, 206 nm (PLA), 117 nm (dibloco) e 150 nm (tribloco), respectivamente. Observou-se a presença de um forte contraste nas imagens de fase nas NS contendo cadeias de PEG, quando analisados por MFA, o que é sugestivo da presença de um material de menor dureza na superfície. Este contraste não foi observado nas NS obtidas a partir do homopolímero de PLA.

Palavras-chave: Nanopartículas Poliméricas, Microscopia de Força Atômica, Ácido poli-*rac*-lático.

Abstract

In this study we present a physicochemical characterization of polymeric nanospheres (NS), produced from block polymers of poly-*rac*-lactide (PLA) covalently linked to polyethylene glycol (PEG). We used polymers with diblock (PLA-PEG) and triblock (PLA-PEG-PLA) architectures, with or without functionalization along the linear PLA backbone. The nanostructures were analyzed and characterized by photon correlation spectroscopy (PCS), to determine the NS mean size and population polydispersity (PI). The morphological analysis was performed by atomic force microscopy (AFM). The average diameters of unloaded NS obtained by AFM were smaller 158nm (PLA), 81nm (diblock) and 98nm (triblock) than those obtained by PCS, 206nm (PLA), 117nm (diblock) and 150nm (triblock). We observed a strong contrast at interfaces of NS containing PEG blocks in phase images, which is suggestive of the presence of a softer domains. This contrast was not observed in the NS obtained from PLA homopolymer.

Keywords: Polymeric Nanoparticles, Atomic Force Microscopy; poly-*rac*-lactide.

Publicações relacionadas: Leite EA, Vilela JMC, Mosqueira VCF, Andrade MS. Poly- ϵ -caprolactone nanocapsules morphological features by atomic force microscopy. Microsc. Microanal. 2005;11:48-51. Dissertação de mestrado defendida no PPG Ciências Farmacêuticas UFOP (Garcia GM, NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS FUNCIONALIZADAS PARA DIRECIONAMENTO DE FÁRMACOS: ESTUDO FÍSICO-QUÍMICO E APLICAÇÕES NO ENCAPSULAMENTO DE FÁRMACOS ANTI-TRYPANOSOMA CRUZI E ANTI-ATEROGÊNICO)